

Abstracts¹ der Vorträge

**Gemeinsame Jahrestagung der
Deutschen Gesellschaft für Laboratoriumsmedizin und
der Deutschen Gesellschaft für Klinische Chemie**

Kongreßpräsident
Gerd Assmann

Wissenschaftliche Programmorganisation
B. Brandt, A. von Eckardstein

Wissenschaftlicher Beirat

F. Bidlingmaier, H. Bruhn, A. Gressner, A. Grünert, W. Herrmann, W. Jaroß, N. Katz,
F. Keller, K. Kleesiek, M. Krieg, C. Luley, D. Neumeier, M. Oellerich, W. Prellwitz,
H. Reinauer, H. Renz, G. Schmitz, P. Schuff-Werner, D. Seidel, R. Tauber, J. Thiery,
Ch. Wagener, H. Wieland, K. Wielckens, H. Wisser

Düsseldorf, 20.-22. November 2000

¹Abdruck der vorliegenden Abstracts nach den von den Autoren eingereichten Vorlagen, ohne redaktionelle Bearbeitung

Grußwort des Tagungspräsidenten und Präsidenten der Deutschen Gesellschaft für Laboratoriumsmedizin

Liebe Kolleginnen und Kollegen!

Ich freue mich, Sie zur gemeinsamen Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Laboratoriumsmedizin und der Deutschen Gesellschaft für Klinische Chemie in Düsseldorf zu begrüßen.

Ich möchte die Gelegenheit nutzen und einige Gedanken zur Situation der Laboratoriumsmedizin äußern. Die moderne Medizin steht heute gänzlich im Zeichen des immensen Fortschrittes in der biomedizinischen Technologie und des rasanten Erkenntnisgewinns über den Beitrag verschiedenster Gene bzw. ihrer Produkte zur Pathogenese von Krankheiten. In dieser Ära der Molekularen Medizin wächst die ohnehin schon große Bedeutung der in-vitro-Diagnostik für die Prävention und Diagnostik von Krankheiten sowie für Therapie- und Verlaufskontrolle ständig. Die ins Astronomische wachsende Zahl untersuchbarer Parameter erfordert kompetenz für die Selektion und Indikation sensitiver, spezifischer und hinsichtlich Kosten/Nutzen-Aspekten vernünftiger Marker, die Sicherung der analytischen Qualität, die organisatorische und ökonomische Bewältigung großer Analysenzahlen und natürlich für die Interpretation der Ergebnisse. Diese Fülle von Aufgaben sollte den Laboratoriumsmediziner eigentlich sorgenfrei in die Zukunft schauen lassen.

Kritisch ist Verschiedenes anzumerken: Die Ausschreibung und Wiederbesetzung freierwerdender Lehrstühle für Klinische Chemie an den Universitäten erfolgt nicht mit derselben Selbstverständlichkeit, die Lehrstühle anderer Institute und Kliniken erfahren. Die Zusammenführung der in vitro-Diagnostik von Großkrankenhäusern und Universitätskliniken in fachärztlich geleiteten Zentrallaboratorien gibt Anlaß zu Streit mit den klinisch tätigen Kollegen, die kleine Laboratorien ihres Fachgebietes leiten. Im niedergelassenen Bereich und Krankenhäusern fürchtet man die Verdrängung der laboratoriumsmedizinischen Praxen bzw. Abteilungen für Klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin durch industrieähnliche Megalaboratorien. Überhaupt steht zur Diskussion, ob Laboratoriumsmedizin eine ärztliche Tätigkeit oder eine technisch-analytische Serviceleistung ist, mit allen Konsequenzen für die Anerkennung des Laboratoriumsmediziners als Arzt.

Was ist das Besondere der Laboratoriumsmedizin, was im Unterschied zu anderen Fächern existenzgefährdend ist? Wichtigster Aspekt ist hier meiner Meinung die Unterschätzung der Notwendigkeit von ärztlicher, wissenschaftlicher und organisatorischer Kompetenz für die Leitung eines medizinisch-diagnostischen Laboratoriums. Nach dem Verständnis vieler Ärzte und noch mehr von Laien wird die Laboratoriumsdiagnostik von Analyseautomaten und technischem Personal dominiert. Dieses Vorurteil läßt sich nur durch enge Kooperation mit Klinikern und durch Transparenz aus der Welt schaffen. In einer Zeit der Hochspezialisierung ist nicht zuletzt auch wichtig, daß der Laborarzt in klinischen Nischen Spezialwissen erlangt, welches ihm Patientennähe ermöglicht. So wie Medizinische Mikrobiologen zunehmend Kompetenz in Klinischer Infektiologie anstre-

ben, sollten Laborärzte sich auch um klinische Kompetenz in Gebieten bemühen, die stark durch in-vitro-Diagnostik gekennzeichnet sind, z. B. Endokrinologie, Stoffwechsel, Hämostaseologie, Molekulare Onkologie, Infektionsserologie oder Rheumatologie.

Kompetenz in der Anwendung der etablierten Laboratoriumsdiagnostik und in der Einführung der neuen Technologien werden meiner Meinung den Laboratoriumsmediziner zu einem gesuchten Partner der klinischen Kollegen machen. Insofern ist auch das Ziel dieses Kongresses eine Verschmelzung von Fortbildung und Forschung. Bei der Zusammenstellung des Programmes bemühen wir uns Themen und Redner zu finden, die sowohl den Fortschritt in Forschung und Entwicklung als auch die Integration dieses Fortschrittes in die laborärztliche Praxis darstellen können. Ich hoffe, daß dieses mit der Unterstützung des wissenschaftlichen Beirates und meiner Mitarbeiter aus Münster und der durchweg positiven Resonanz der eingeladenen Sprecher gelungen ist. Ich möchte mich deshalb schon an dieser Stelle bei allen Mitgliedern des wissenschaftlichen Beirates, bei meinen Mitarbeitern und bei den Sprechern bedanken.

Sehr gefreut habe ich mich auch über die große Zahl der eingereichten Abstracts für Posterpräsentationen. Die Qualität dieser Beiträge steht auf einem hohen Niveau. Ich möchte Ihnen deshalb wärmstens empfehlen, in den Pausen und vor allem am Dienstagabend auf der Posterparty, die Poster aufzusuchen und mit den Autoren zu diskutieren. Auch dieses Jahr sollen zwei Posterpreise verliehen werden. Im Vorfeld sind alle Abstracts vom wissenschaftlichen Beirat gewertet worden. Am Dienstagabend sollen die Gewinner durch eine geführte Posterpräsentation unter zehn Finalisten ermittelt werden.

Die Durchführung wissenschaftlicher Tagungen ist nur möglich mit Unterstützung der Industrie. Diese ist auch in diesem Jahr gewährt worden trotz engerer Budgets und, was heutzutage möglicherweise noch relevanter ist, trotz der juristischen Diskussion um solche Unterstützungen. Ich bedanke mich deshalb ganz herzlich bei den Sponsoren unserer Jahrestagung.

Mein Dank gehört auch den Mitarbeitern der MEDICA e.V., die uns bei der Organisation dieser Jahrestagung hervorragend unterstützt haben, und dem Blackwell Verlag, der den Druck der Abstracts und des Programmes übernommen hat.

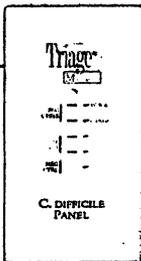
Zuletzt möchte ich mich bei Ihnen allen für Ihr reges Interesse an unserer Jahrestagung danken. Ich wünsche Ihnen, daß Sie auf dieser Jahrestagung viele interessante Kollegen und Neuheiten kennenlernen.

Univ.-Prof. Dr. med. *Gerd Assmann*, FRCP
Institut für Klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin
Westfälische Wilhelms-Universität
D-48129 Münster

Autorenverzeichnis

Aguzzi, A.	444	Liebl, B.	443
Armstrong, V. W.	445	Lilja, H.	446
Assmann, G.	441, 443, 447	Maaß, M.	448
Autenrieth, I. B.	448	Martens, K. M.	452
Back, D.	445	Marx, J. J. M.	443
Behrens, A.	444	Merschjann, A.	447
Berdel, W. E.	441	Montenarh, M.	447
Bergmann, F.	454	Müller, C.	441
Blankenstein, G.	450	Neumaier, M.	447
Bohnet, H. G.	452	Nezam, R.	447
Brandner, S.	444	Niederacher, D.	441
Brandt, B.	447	Nowak-Göttl, U.	443, 453
Büchner, T.	441	Oellerich, M.	445
Bürger, H.	447	Olgemöller, B.	443
Bussen, M.	441	Parizek, P.	444
Cullen, P.	450	Pfeilschifter, J.	451
Dittmar, T.	447	Prinz, M.	444
Eckardstein, A. von	443	Raue, F.	452
Efcavitch, J. W.	449	Rehders, A.	447
Fingerhut, R.	443	Röckl, C.	444
Fischer, M. B.	444	Rondot, S.	452
Frank-Raue, K.	452	Roots, I.	444
Funke, H.	442, 450	Roscher, A.	443
Glatzel, M.	444	Schambeck, C. M.	453
Greinacher, A.	454	Scherbaum, W. A.	443
Groß, U.	449	Schröder, W.	454
Hagedorn, H.-J.	448	Schulze, E.	452
Hawkins, C.	444	Schulze-Bahr, E.	442
Heppner, F.	444	Schwartz, M. K.	450
Herrmann, F. H.	454	Seedorf, U.	450
Hillenkamp, F.	450	Serve, H.	441
Holt, D. W.	445	Shih, D. Q.	441
Höppner, W.	451	Siekmann, L.	452
Horstmann, S.	444	Steffen, B.	441
Jung, R.	447	Stieber, P.	446
Junker, R.	443, 453	Stoffel, M.	441
Kempf, V.	448	Vinks, A. A.	444
Klein, M. A.	444	Wulff, K.	454
Klenk, H.-D.	449	Zänker, K. S.	447
Krüger, W.	447		

**TRIAGE®
C. difficile Panel**
Enzym-Immuno-Assay zum gleichzeitigen Nachweis von C. difficile Antigenen und Toxin A aus Stuhl



Das Testprinzip:

C. difficile Antigen und / oder Toxin A werden auf einer Membran durch spezifische Antikörper gebunden und durch Enzymkonjugate sichtbar gemacht: Eine Farbbande erscheint neben dem entsprechenden Namen auf der Testkassette.

Schnell

Ergebnisse in nur 15 Minuten.

Zuverlässig

Negativ-Vorhersagewert 99,7 %*
Sensivität 98,4 %**
Spezifität 94,9 %**

Sicher

Integrierte Positiv- und Negativ-Kontrollen auf jeder Testkassette

Einfach

20 Testkassetten, alle benötigten Materialien im Kit

FDA zugelassen

* Quelle: Hall et al., Data from the Cleveland Clinic Foundation
** im Vergleich zu DNA-Amplifikationstechniken

Vertrieb durch:



VIVA Diagnostika
Diagnostische Produkte GmbH
Breite Straße 26 · D-50354 Hürth / Köln
Fon +49 - 22 33 - 94 30 65
Fax +49 - 22 33 - 94 30 67
e-Mail:
service@viva-diagnostika.com
Internet:
www.viva-diagnostika.com



Abstracts der Vorträge

Genetische Parameter in der klinischen Diagnostik

The Diabetes Gene HNF-1 α is an Essential Regulator of Bile Acid and HDL Cholesterol Metabolism

D. Q. Shih, M. Bussen, M. Stoffel

Laboratory of Metabolic Diseases, The Rockefeller University, New York, NY 10021

Type 2 diabetes is frequently associated with abnormalities in cholesterol and lipoprotein metabolism, yet the molecular mechanisms are poorly understood. Maturity-onset diabetes of the young type 3 (MODY3) is caused by a haploinsufficiency in HNF-1 α . HNF-1 α deficient mice have been created and shown to have type 2 diabetes, dwarfism, renal Fanconi syndrome, hepatic dysfunction and hypercholesterolemia. To explore the molecular basis for the hypercholesterolemia we used DNA microchip expression analysis in the liver and intestines of mice that lack HNF-1 α expression. We demonstrate that HNF-1 α $-/-$ mice have: (i) a defect in bile acid transport, (ii) increased bile acid and liver cholesterol synthesis, and (iii) impaired HDL metabolism. Livers of HNF-1 α deficient mice have markedly decreased expression of the basolateral membrane bile acid transporters Ntcp, Oatp1 and Oatp2, leading to impaired portal bile acid uptake and elevated plasma bile acid concentrations. In the intestine and kidneys, HNF-1 α null mice lack expression of the ileal bile acid transporter (ASBT) that results in increased fecal and urinary bile acid excretion. HNF-1 α also transcriptionally regulates the farnesoid X receptor (FXR) and Cyp7 α , the rate-limiting enzyme in the classic bile acid biosynthesis pathway, and bile acid storage protein HBAB. Increased plasma cholesterol of HNF-1 α null mice exists predominantly in large buoyant HDL particles. This is probably due to reduced expression of the HDL-catabolic enzyme hepatic lipase (HL) and increased expression of HDL cholesterol esterifying enzyme lecithin:cholesterol acyl transferase (LCAT). Our studies demonstrate that HNF-1 α in addition of being an important regulator of insulin secretion, is an essential transcriptional regulator of bile acid and HDL-cholesterol metabolism.

Genetische Parameter in der Diagnose von Leukämien und Lymphomen

H. Serve, C. Müller, B. Steffen, T. Büchner, W. E. Berdel

Medizinische Klinik und Poliklinik, Innere Medizin A, Universität Münster

Leukämien und Lymphome gehören zu den ersten malignen Erkrankungen, bei denen die Beschreibung genetischer Aberrationen, meist in Form von balancierten chromosomalen Translokationen, die Diagnostik und Therapie beeinflussen. Die molekulare Klonierung der Translokationen und die

Entwicklung quantitativer PCR-Methoden erlauben es, minimale Resterkrankung nach Therapie zu überwachen und ein Rezidiv früh vorherzusagen. Anstrengungen zur zunehmenden Standardisierung dieser Methoden werden auf europäischer Ebene unternommen. Neue Entwicklungen beruhen auf der massiv-parallelen Bestimmung von mRNA-Expressionsdaten. cDNA- oder Oligonukleotidsonden, die auf Membranen, Glas- oder Silikonplättchen aufgetragen werden, erlauben bereits die simultane Messung der Expression von bis zu 60 000 Genen in einer gegebenen Probe.

Die Bedeutung dieser Entwicklung ist kaum zu überschätzen und die ersten Bewertungen der diagnostischen Nutzbarkeit werden an Leukämien durchgeführt: es besteht die Hoffnung, auf diese Art objektivere Diagnosen mit höherem Aussagewert als bisher stellen zu können, ohne auf subjektive Fähigkeiten lang trainierter Spezialisten angewiesen zu sein.

Durch Korrelation der Expressionsprofile mit bekannten biologischen und klinischen Parametern von Leukämien wird es auch erstmals möglich, systematisch nach der pathophysiologischen Bedeutung der Expression einzelner Gene zu fragen. Somit ermöglichen die neuen genetischen Untersuchungen die systematische Suche nach Zielmolekülen für die Entwicklung rationaler molekularer Therapien.

Genetische Parameter solider Tumore

D. Niederacher

Molekulargenetisches Labor der Frauenklinik, Heinrich-Heine-Universität, Düsseldorf

Das heutige Verständnis über Entstehung und Entwicklung von Tumoren basiert auf dem von *Fearon* und *Vogelstein* für das Kolorektalkarzinom entwickelte Modell der Mehrschritt-Karzinogenese. Die molekularen Mechanismen, die Spezifität und Reihenfolge der genetischen Veränderungen sind noch weitgehend unbekannt. Auf der Genebene lassen sich grundsätzlich zwei Typen genetischer Veränderungen unterscheiden: die Aktivierung von Proto-Onkogenen („gain-of-function“) und die Inaktivierung von Tumorsuppressorgenen („loss-of-function“). Bekannte Aktivierungsmechanismen sind z. B. Genamplifikationen, Genüberexpression und Mutationen, die zu einer veränderten oder einer unkontrollierbaren Überfunktion des Onkogens führen. Genetische Defekte, die zur Inaktivierung eines Tumorsuppressorgens führen, sind zumeist Mutationen und/oder Deletionen, die einen vollständigen Funktionsverlust des betroffenen Gens zur Folge haben. Aufgrund der Komplexität der Tumorentwicklung lassen sich Aussagen über die klinische Relevanz bekannter Genveränderungen, insbesondere für Prognose und Therapie der jeweiligen Krebserkrankung, gegenwärtig nur in wenigen Fällen beschreiben. Dennoch erschließt sich durch den Einsatz moderner molekulargenetischer Analysetechniken die Möglichkeit, spezifische genetische Veränderungen den histopathologisch charakterisierten Tumoren klinisch definierter Patientengruppen zuzuordnen. Weiterhin ermöglicht die prädiktive genetische Analyse bei familiären Krebserkrankungen den Nachweis eines prädisponierenden Gendefekts und damit eine mögliche prädiktive Abschätzung des Erkrankungsrisikos.

Coronary Heart Disease: The Role of Gene Expression Analysis in Understanding this Complex Genetic Disease

H. Funke

Institut für Klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin, Westfälische Wilhelms-Universität Münster, Albert-Schweitzer-Str. 33, D-48149 Münster

Coronary heart disease (CHD) is an important factor for morbidity and death in developed countries. It is likely that with increasing wealth, the incidence of atherosclerotic diseases will also increase in the emerging nations.

Current programs for risk reduction are primarily targeted towards changes in lifestyle factors. Family and twin studies have shown, however, that a major proportion of cardiovascular risk can be assigned to genetic factors. In rare cases, as in homozygous familial hypercholesterolemia, a single gene defect alone causes early onset CHD. More often, myocardial infarction, stroke, diabetic vasculopathy and other forms of atherosclerosis arise from the interaction between several genes of small effect (polygenes) and adverse environmental factors. In myocardial infarction occurring at young age gene defects may be the leading causative factors. Despite such a prominent role of genetics in the pathophysiology of atherosclerosis clinical risk assessment and therapeutic decision making are still based on classical risk factors. This is largely due to current limitations in the detection of genetic variation in large population samples.

A major obstacle in the assessment of the role single nucleotide polymorphisms (SNPs) have in the prediction of CHD has been the difficulty to cluster the phenotypic effects of SNPs from a large number of genes in a functionally relevant way. Gene expression data provide a summary of the effects the interaction of various genes and their variants have with each other and also with external factors, such as individual lifestyle habits. The analysis of such a synopsis with gene chip technology allows the use of much simpler mathematical models for data analysis. Expression profiling is therefore seen as a potentially very helpful tool in the early detection and classification of CHD and thus offers the potential to be an invaluable aid for therapeutic decision making.

As a first step, we have characterized expression profiles from carriers of monogenic disorders which are tightly associated with premature CHD formation and compared them to profiles from controls. This identified potential downstream mediators of the vascular processes leading to atherosclerosis.

Genetische Parameter in der klinischen Diagnostik - Herzrhythmusstörungen

E. Schulze-Bahr

Medizinische Klinik und Poliklinik, Innere Medizin C (Kardiologie/Angiologie), Westfälische Wilhelms-Universität Münster

Die Forschungserkenntnisse durch das menschliche Genomprojekt haben in letzter Zeit zu einer zunehmenden Identifikation von genetisch-bedingten Erkrankungen, insbesondere

in der Kardiologie, geführt. Hier sind insbesondere verschiedene Formen von Herzrhythmusstörungen (sog. Arrhythmien) und Herzmuskelerkrankungen (sog. Kardiomyopathien) zu nennen, die lange als „idiopathisch“ (d. h. ohne erkennbare Ursache) bezeichnet wurden. Eine erbliche Genese dieser Erkrankungen wurde mitunter durch die beobachtete, familiäre Häufung von Betroffenen nahegelegt. Durch die in wachsendem Maße zunehmenden Kenntnisse über Aufbau und Funktion von Chromosomen und der Lokalisation von Genen hierauf als auch durch die technischen Möglichkeiten der Molekulargenetik bedingt gelang es, wichtige Krankheitsgene für erbliche Herzrhythmusstörungen zu finden. Im Blickpunkt stehen derzeit Erkrankungen, die aufgrund von schnellen Herzrhythmusstörungen mit Ursprung in den Hauptkammern des Herzens (z. B. QT-Syndrom, Brugada-Syndrom, idiopathisches Kammerflimmern) unbehandelt mit einer hohen Sterblichkeit assoziiert sind. Eine molekulargenetische Diagnostik durch Analyse der verursachenden Gene kann eine klinische Diagnose bestätigen oder eine Verdachtsdiagnose weiter erhärten. Letzteres ist insbesondere in potentiell bedrohten Patienten mit diagnostischen Randbefunden oder bei Patienten ohne jeglichen Symptomen (präsymptomatische Krankheitserkennung) von Bedeutung, da eine effektive Behandlung der Herzrhythmusstörungen möglich ist. Alle derzeit bekannten Gene für erbliche Herzrhythmusstörungen sind sog. Ionenkanalgene, die den elektrischen (Erregungs-)Zustand von Herzzellen regulieren. Die Subklassifizierung der Gendefekte durch molekulargenetische Untersuchungen hat zu einem erweiterten Verständnis der Krankheitsentstehung und der auftretenden Herzrhythmusstörungen (Arrhythmien) geführt. Die diagnostische Sicherheit von genetischen Untersuchungen ist dabei sehr hoch. Da Ionenkanäle therapeutische Angriffspunkte und Wirkorte von Antiarrhythmika sind, besteht einerseits die Hoffnung einer auf den Gendefekt abzielenden (antiarrhythmischen) Therapie, andererseits sollen durch Medikamente auslösbare und unerwünschte Herzrhythmusstörungen (sog. Proarrhythmien) mitunter vermieden werden. Die Umsetzung der genetischen Studienergebnisse in die klinische Praxis hat mittlerweile begonnen.

Erbliche Herzrhythmusstörungen wie das QT-Syndrom haben das interessante Spannungsfeld zwischen klinischer Diagnostik und Therapie, molekulargenetischem Befund und Beratung sowie angewandter Elektrophysiologie und Gentherapie erreicht.

Stoffwechselerkrankungen - Neue diagnostische und prädiktive Parameter

Expanded Newborn Screening by Tandem Mass Spectrometry

A. Roscher¹, B. Liebl², R. Fingerhut³, B. Olgemöller³

¹ Children's Hospital, University of Munich,

² Public Health Screening Center, Oberschleissheim, Germany,

³ Newborn Screening Laboratory, Munich, Germany

In the past neonatal population screening programs (NBS) have been performed largely by using bacterial inhibition assays and immunoassays and have relied on the "one test-one disorder" principle covering only a very small number of diseases such as phenylketonuria or congenital hypothyroidism. During the same period many new treatable diseases were discovered, such as organic acidemias and fatty acid oxidation defects. If not identified presymptomatically these infants become mentally retarded, develop cerebral palsy, or die suddenly. Electrospray tandem mass spectrometry (TMS) has provided an automated high throughput (approximately 600 samples/instrument/24 h), specific, and "one test-many disorders" approach to screening for a relatively large number of disorders from a single 3 µl blood spot. After appropriate sample preparation, addition of deuterated internal standards and derivatization a large number of amino acids and acylcarnitines in blood spots are quantified simultaneously in 2 minutes analytical time by using specific scan functions. In Bavaria a 3-year prospective TMS-based newborn screening (NBS) study was outlaid in consensus with legal, ethical, scientific and medical bodies. Features: Voluntary participation, written consent, extensive information policies, early screening (day 3), standardized operation under rigid quality assurance (QA) rules, scientific surveillance. A comprehensive expert medical knowledge base (multianalyte pattern recognition analysis) was developed and adhered to the commercial TMS-interpretation tools that proved to be a key element for high specificity and very low TMS related recall rates (0.3%) despite a marked increase in the number of disorders covered. Within 200.000 newborns (→ 98% coverage) specified disorders were picked up at a cumulated frequency of about 1:1400 as compared to 1:2600 prior to the change. In particular a high frequency (1:8000) of FAO disorders associated with early unexpected death, if unrecognized, is evident. The introduction of expanded NBS in Bavaria already proved to be highly cost-effective and of major preventive benefit.

Typ-1-Diabetes als Autoimmunerkrankung

W. A. Scherbaum

Diabetes Forschungs Institut Düsseldorf

Ohne Abstract

Lipoprotein(a) is an Important Risk Factor for Various Arterial and Venous Vascular Diseases

A. von Eckardstein¹, U. Nowak-Göttl², R. Junker¹, G. Assmann¹

¹ Institut für Klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin,

² Klinik für Kinderheilkunde, Albert-Schweitzer-Straße 33, D-48129 Münster

We investigated in a prospective study the role of lipoprotein(a) (Lp(a)) as a risk factor for myocardial infarction [1, 2] and in three case-control studies the role of Lp(a) for venous thromboembolic disease and stroke in childhood [3, 4], and for habitual foetal loss in pregnancy [5]. Lp(a) levels >20 mg/dl increased the risk of myocardial infarction in 35 to 65 years old men by factor 2.7. The association became especially evident in men with high LDL-cholesterol, low HDL-cholesterol, arterial hypertension, and in men with high global cardiovascular risk. In children an Lp(a) >30 mg/dl increased the risk of ischaemic stroke (odds ratio: 7.1) and venous thromboembolism (odds ratio: 6.3). The coincidence of Lp(a) >30 mg/dl with a thrombophilic defect had an odds ratio of 8.4 for thromboembolic events and an odds ratio of 33.2 for ischaemic stroke. Comparing the data of 40 women who suffered from at least three foetal losses in the first trimester of pregnancy with 46 age-matched women who delivered children without any complication, Lp(a) >30 mg/dl was found in 35% of patients but only 6.5% of controls (odds ratio: 7.7). In conclusion, Lp(a) measurements should be included in the screening of risk factors in individuals with premature coronary or cerebral artery disease, in children with venous thromboembolic disease, and in women with habitual abortion.

References

1. Assmann G, Schulte H, von Eckardstein. *A Am J Cardiol* 1996;77:1179-84.
2. von Eckardstein et al. *J Am Coll Cardiol*, in press.
3. Nowak-Göttl et al. *Circulation* 1999;100:743-8.
4. Nowak-Göttl et al. *Blood* 1999;94:3678-82.
5. Nowak-Göttl et al. *Thromb Haemost* 2000;83:350-1.

Iron Metabolism

J. J. M. Marx

Eijkman-Winkler Institute for Microbiology, Infectious Diseases and Inflammation, University Medical Centre, Utrecht, The Netherlands

Iron is an essential element with numerous biological functions, including electron shuttling, oxygen transport, protection against and generation of oxygen radicals and killing of microorganisms. Iron metabolism is a closed circuit, including many important transport steps, in which total body iron is regulated by intestinal mucosal cells. Diseases associated with impaired iron metabolism are among the most frequent in the world. Iron deficiency is world-wide the most common element-deficiency disorder. The condition may, however, also be caused by rather unknown inherited metabolic defects. Iron overload can be secondary to dyserythropoietic and haemolytic anaemias (e.g. thalassaemias), or caused

by hereditary haemochromatosis, the most common autosomal recessive disorder among Europeans (10% of the population being heterozygote).

In recent years enormous progress has been made in our understanding of intracellular regulation of iron concentration, molecular genetics of haemochromatosis and structure and function of proteins involved in iron transport. Some of these proteins were only detected during the last two years. Investigation of molecular defects of these molecules, which can be identified at DNA and protein level, may elucidate hitherto poorly defined iron disorders. New diagnostic tools emerge as a result of our rapidly growing knowledge of molecular and genetic aspects of iron, iron-binding proteins and related diseases. Reliable interpretation of existing and emerging diagnostic procedures is only possible with sufficient knowledge of the newer molecular developments in iron metabolism.

Prion Neurotoxicity and Neuroinvasion

A. Aguzzi, S. Brandner, C. Röckl, M. B. Fischer, A. Behrens, M. Glatzel, P. Parizek, F. Heppner, M. Prinz, S. Horstmann, C. Hawkins, M. A. Klein

Institut of Neuropathology, University Hospital of Zürich, Schmelzbergstr. 12, CH-8091 Zürich, Switzerland

A wealth of evidence points to the identity of PrP^{Sc} with the prion, the transmissible agent causing spongiform encephalopathies (TSEs). To address the question of CNS pathogenesis, we grafted neuroectoderm from mice which overexpress PrP^C into the brain of scrapie-resistant PrP-deficient mice, and inoculated it with scrapie prions. Infected grafts developed scrapie and contained high amounts of PrP^{Sc} and infectivity, while neighbouring cells remained unaffected. The host life span was not reduced. Therefore, availability of endogenous PrP^C to the infectious agent, rather than deposition of PrP^{Sc}, correlates with scrapie neurotoxicity *in vivo*. We then addressed the spread of prions from peripheral sites to the CNS, by transplanting neuroectoderm from overexpressing PrP to the brain of Prnp^{0/0} recipients. Scrapie was not detected in grafts after intraocular (*i.o.*), intraperitoneal (*i.p.*), or subcutaneous (*s.c.*) inoculation. Immunity to PrP developed in several animals soon after grafting, but anti-PrP titers did not influence the course of the disease after *i.c.* inoculation, and no transport of *i.o.* infectivity was detected in animals tolerant to PrP. Adoptive transfer of PrP-expressing bone marrow cells restored prion replication in the spleen, but did not reconstitute neuroinvasion via *i.p.* route. These results indicate that PrP^C supports infectious spread from the periphery to the CNS, and imply that neuroinvasion depends on the neuroimmune interface. B-lymphocytes are crucial for neuroinvasion, independently of whether they express PrP^C or not: B-cell deficient mice resist *i.p.* inoculation of prions, and infectibility is restored upon transfer of PrP-positive or negative B-cells. B-cells support maintenance of follicular dendritic cells by presenting lymphotoxin- α/β trimers to them: interference with this pathway by administration of soluble lymphotoxin- β receptors appears to impair lymphoid replication of prions. This may indicate a target for post-exposure prophylaxis.

Drug Monitoring

Genetische Polymorphismen

I. Roots

Berlin

Ohne Abstract

Rationale for Monitoring of Aminoglycosides: Cost-Effectiveness of a Goal-Oriented Model-Based Dosing Method

A. A. Vinks

Pharmacology Research Unit, Children's Hospital Medical Center, Cincinnati OH, USA

The success and continuing use of the aminoglycosides can be attributed to various factors including rapid concentration dependent bactericidal effect, clinical efficacy, synergism with β -lactam antibiotics, a low rate of true resistance and low cost. The major limitation to the clinical use continues to be concern for the development of oto- and nephrotoxicity. The nephrotoxic effects are shown to be due to drug accumulation and active uptake in the kidney, which is related to the dosing schedule. Therapeutic drug monitoring (TDM) of the aminoglycosides will reduce the incidence of nephrotoxicity while maximizing efficacy parameters such as the peak to MIC ratio. Individualized pharmacokinetic dosing based on target peak and trough concentration has been shown to result in better clinical outcome, shorter hospitalization, better safety and reduction of costs [1]. With the introduction of extended interval dosing for aminoglycosides the role TDM to assist dosing has been the subject of considerable debate. There is no „therapeutic range“ for extended interval dosing and the concept is difficult to apply in the conventional sense. Trough concentrations should usually be immeasurable, and if measurable often imply overdosage. The benefits of an active therapeutic monitoring service (ATM) using a population model-based Bayesian pharmacokinetic approach and PK dosing in special populations (ICU, renal failure and pediatrics patients) will be addressed.

Reference

1. Van Lent-Evers et al. Impact of goal-oriented, model-based TDM of aminoglycosides on clinical outcome: a cost-effectiveness analysis. *Ther Drug Monit* 1999;21:63-73.

mö-quick Mononukleose Vollblut Test

Die infektiöse Mononukleose (IM) ist eine akute, gutartige, ansteckende Krankheit, die durch das Epstein-Barr-Virus (EBV) ausgelöst wird. Sie wird durch Lymphadenopathie, Pharyngitis, Fieber, atypischer Lymphozytose und Splenomegalie (Milzvergrößerung) charakterisiert.

Die klinische Diagnostik wird in der Regel mittels Auswertung von Veränderungen im klinisch hämatologischen und serologischen Bereich durchgeführt.

Die serologische Diagnostik eines immunochromatographischen Tests wird im mö-quick MONO Vollblut Test verwendet, um mittels heterophiler Antigene die im Vollblut befindlichen IM-Antikörper mit einem hohen Grad an Sensitivität und Selektivität zu identifizieren.

Zum Test wird lediglich 1 Tropfen Blut benötigt sowie Pufferlösung als Trägermedium.

Nachdem die Blutprobe in den Probenschacht gegeben wurde, durchzieht sie mittels Kapillarkwirkung das vertikale, durchlässige Filtrationssystem. Die Blutzellen verbleiben auf der oberen Membranschicht während das Plasma die unterste Membranschicht erreicht. Nach Zugabe des Extraktionspuffers in den dafür vorgesehenen Schacht, gelangt dieser ebenso bis auf die unterste Membranschicht, mischt sich mit dem Plasma und zieht horizontal über die Testmembran.

Sind IM heterophile Antikörper in der Probe vorhanden, binden sie überzogene Antikörper-Farbkonjugate und bilden einen Farbkomplex. Dieser Komplex wird durch die in der Testzone „T“ immobilisierten heterophilen Antigene gebunden. Es erscheint eine deutlich sichtbare pink-rosa Linie auf der Membran.

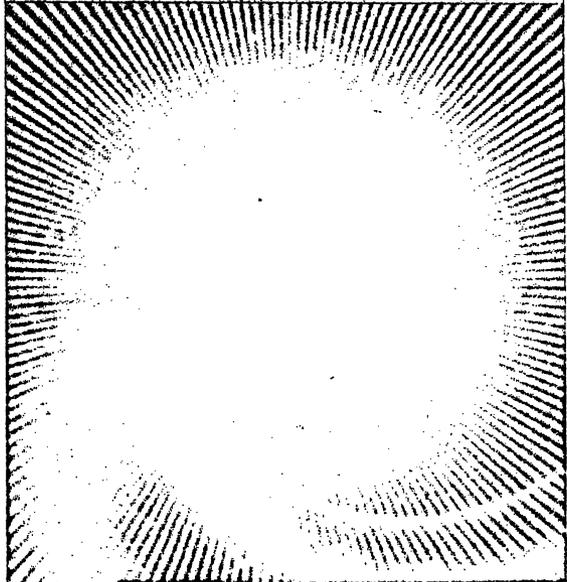
Das Farbkonjugat wird durch ein immobilisiertes Reagenz in der Kontrollzone der Membran gebunden. Die Entwicklung einer pink-rosa Linie in der Kontrollzone des Tests zeigt an, daß die Patientenprobe von der Membran absorbiert wurde und daß der Kapillarfluß stattgefunden hat. Der Tests hat korrekt gearbeitet.

Mit dem mö-quick MONO Vollblut Test ist eine zuverlässige Screening Diagnostik von IM innerhalb von 10 Minuten möglich.

Weitere Informationen:

mölab, Verbindungsstr. 27, D-40723 Hilden
Tel.: 02103/6836, Fax: 02103/88347

For the successful management
of septic infections



Definitely PCT

B·R·A·H·M·S PCT®-Q

fast diagnosis
at any time in any hospital

LUMItest® PCT

LIAISON® B·R·A·H·M·S PCT®

close monitoring
of treatment and disease course



**B·R·A·H·M·S
DIAGNOSTICA GMBH**

B·R·A·H·M·S Diagnostica GmbH
Neuendorferstr. 25 · 16761 Hennigsdorf / Berlin
Phone: +49-3302-883-0 · Fax: +49-3302-883-100
E-Mail: brahms@brahms.de · Internet: www.brahms.de
www.procalcitonin.com

Blackwell
Wissenschaft

**praxisnah
umfangreich
anschaulich**

Danilo Jankovic
**Regionalblockaden
in Klinik und Praxis**
Lehrbuch und Atlas

**2., vollständig überarbeitete,
erweiterte und komplettierte Auflage**



*Jetzt der ganze Körper!
Völlig neues Bildmaterial!*

2000. 352 Seiten, 444 farbige Abbildungen
und 17 Tabellen. 21 x 28 cm. Gebunden.
DM 298,- / öS 2175,- / sFr 274,50
ISBN 3-89412-416-4

In der zweiten Auflage wird das einzigartige didaktische Konzept beibehalten. Anatomische Zeichnungen von hervorragender Detailgenauigkeit und die Bildokumentation der einzelnen Schritte ermöglichen es, jedes Blockadeverfahren nahezu vollständig zu verfolgen.

Praxisnah werden klare anatomische Einführungen und eindeutige Durchführungsanleitungen vermittelt.

Gegenüber älteren Auflagen dieses Lehrbuchs erlangte der Wertes wurde der Umfang vergrößert. Neben Blockaden für Thorax und Abdomen, die im letzten Band beschrieben waren, wurden auch epidurale Blockaden, die im letzten Band beschrieben wurden, das gesamte Spektrum der Regionalanästhetik umfassend dargestellt. In jeder Auflage ist das

2000. Ca. 512 Seiten, 178 farbige Abbildungen, 29 Tabellen
12,5 x 19 cm. Flexibler Kunststoffeinband
DM 78,- / öS 569,- / sFr 72,-
ISBN 3-89412-444-X

Ein Bestseller – im neuen Gewand, mit noch mehr Inhalt.
Der neue Oczeni ist

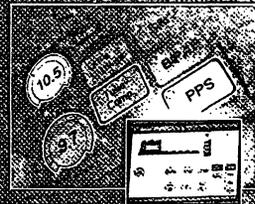
- didaktisch klar strukturiert,
- übersichtlich und leicht verständlich,
- durch einprägsame farbige Graphiken hervorragend illustriert,
- aus der intensivmedizinischen Praxis für die Praxis geschrieben,
- mit klaren Rechenbeispielen,
- mit jeweils konkreten Therapievorschlägen untermauert.

**Wolfgang Oczeni,
Alois Werba · Harald Andel**

Atmen – Atemhilfen

**Atemphysiologie und
Beatmungstechnik**

**4., komplett überarbeitete
und erweiterte Auflage**



Blackwell Wissenschafts-Verlag Berlin · Wien

Kurfürstendamm 57 · D-10707 Berlin · Infoline 030-32 79 06-27/28 · Fax 030-32 79 06-44 · e-mail: vertrieb@blackwell.de
Internet: <http://www.blackwell.de> · Preisstand: 15. April 2000 · Zu beziehen über den Buch- und Fachhandel

Therapeutic Drug Monitoring: Anti-HIV drugs

D. Back

Department of Pharmacology & Therapeutics, University of Liverpool, Ashton Street, Liverpool L69 3BX. UK

Despite its success, combination anti-retroviral therapy (ART) still lacks sufficient potency and durability. There are a growing number of patients who fail treatment despite exposure to most anti-retroviral drugs. Treatment failure is clearly multifactorial and may include the development of antiviral resistance, poor adherence to therapy and pharmacokinetic (PK) reasons. Variability in PK (inter- and inpatient variability) means that drug exposure is not always optimal, thereby giving the virus a chance to replicate. This is particularly important in relation to protease inhibitors (PIs). A significant number of patients receiving PIs (b.i.d or t.i.d) have trough plasma concentrations (C_{trough}) which are below the plasma protein binding corrected IC_{50} for the virus. It is primarily in this context that Therapeutic Drug Monitoring (TDM) of PIs has been proposed (and cautiously introduced in some centres) ie, to ensure that patients have adequate concentrations throughout the dosing interval. On the other hand TDM can also be important in determining inappropriately high concentrations of drug. A main focus of research is to improve PI bioavailability by co-administration with ritonavir. As a potent inhibitor of the major cytochrome P450 drug metabolizing enzyme CYP3A4, ritonavir substantially increases the plasma levels of other co-administered PIs. With indinavir, nelfinavir and amprenavir the effect of ritonavir is predominantly to increase the half-life of the boosted PI. For saquinavir, the predominant effect is to increase C_{max} . This strategy allows the dose and dosing frequency of the co-administered PI to be reduced. However there is the possibility of plasma levels being too high with boosted PIs and hence drug related toxicity ensuring. TDM has a role to recommend dose reductions in cases where there are suspicions of toxicity.

Immunosuppressive Drug Monitoring

V. W. Armstrong, M. Oellerich

Abteilung Klinische Chemie, Georg-August-Universität Göttingen, Robert-Koch-Straße 40, D-37075 Göttingen

Because of their variable pharmacokinetics and narrow therapeutic indices, monitoring of immunosuppressive drugs is an essential part of patient care after transplantation to reduce risk of toxicity or rejection. Most immunosuppressive protocols use cyclosporine (CsA) or tacrolimus as primary immunosuppressant and trough whole blood levels are determined to guide dosing. The introduction of the microemulsion formulation of CsA with a more consistent absorption has renewed interest in alternative sampling strategies to further reduce risk of rejection. Monitoring either C_2 (2-hr post-dose) or a combination of C_0 (trough) and C_2 may provide a more practical and useful alternative for optimising therapy with Neoral. The validity of these new strategies is now being tested in randomised clinical trials.

Azathioprine, one of the oldest immunosuppressants, is converted *in vivo* to the active 6-thioguanine nucleotides (6-TGN). Prospective studies have shown the clinical utility of measuring red cell 6-TGN and TPMT activity to individualise azathioprine therapy.

Mycophenolate mofetil (MMF) and sirolimus are two new immunosuppressants. MMF is rapidly metabolised *in vivo* to its active constituent mycophenolic acid (MPA). From pharmacokinetic-clinical outcome and concentration-controlled studies in renal transplant recipients on CsA, MMF and steroids, therapeutic ranges in the early post-transplant phase of 30-60 mg*/L for MPA-AUC and 1-3.5 mg/L for pre-dose MPA have been proposed. These ranges are based on MPA measurement by HPLC. Sirolimus is a powerful immunosuppressant which acts in synergy with CsA. Trough sirolimus concentrations > 15 µg/L are associated with an enhanced risk of both thrombocytopenia and hyperlipidemia. A provisional therapeutic range for sirolimus when used in combination with cyclosporine is 5-15 µg/L.

Total Quality Management for the Measurement of Immunosuppressive Drugs

D. W. Holt

Analytical Unit, St George's Hospital Medical School, London, UK

It is generally agreed that the measurement of immunosuppressive drugs, as a guide to optimal prescription, is a valuable adjunct to patient management. The drugs most frequently measured are cyclosporin and tacrolimus but, increasingly, assays for mycophenolic acid and sirolimus are being offered. None of the assays available is free from analytical problems and it is essential that laboratories establish systems which ensure their continued competence in the use of these assays, both within-house and compared with other laboratories performing the same assay. This is usually achieved by a mixture of internal and external measures of performance. Their systematic use results in Total Quality Management (TQM), which involves the examination of the Total Testing Process (TTP). To ensure the integrity of the TTP it is necessary to examine all aspects of a test, including non-analytical factors. This review will encompass methods of evaluating the pre-analytical and post-analytical factors involved in the measurement of these drugs, as well as surveillance of the actual assays themselves.

Inevitably, most published data relate to the comparative performance of laboratories in external proficiency testing schemes. These schemes rarely test the TTP, by supplying an unknown number of blinded samples, indistinguishable from actual test samples. In the absence of adequate external schemes, laboratories need to develop quality assurance procedures which ensure that pre-analytical matters, such as staff training, equipment maintenance, sample reception and sample labelling, and post-analytical matters, such as accurate provision of the result and sample archiving, are documented.

Internal quality control data are an essential part of day-to-day assessment of performance, providing that close attention is paid to the results. Analytical performance of the assays is relatively easy to document, using data generated by proficiency testing schemes, although these schemes may

engender a false sense of security for a variety of reasons, including the nature of the sample matrix, the frequency of challenges and the definition of the target value. These topics will be discussed with reference to the following headings and actual data generated by schemes.

1. Proficiency testing samples may not be a true reflection of the typical sample matrix and may not contain metabolites of the drug of interest. They may also receive special handling by the laboratory.
2. Since the measurement of these drugs is an important part of the decision tree for calculating dose adjustment, consideration should be given to the frequency of challenges, rather than complying with the minimum number required by accreditation bodies.
3. Methods for the calculation of the target value will be evaluated, with particular reference to the limitations of the method mean as a reliable parameter to flag poor performance.

It will be concluded that, against the background of current consumer expectations, it is essential that laboratories are able to demonstrate their competence when performing analyses of critical dose drugs. Whilst within-house data are essential in this procedure, some external measure of performance is now expected. The limitations of the design of external proficiency testing schemes must always be borne in mind, to guard against unrealistic estimates of attainment.

References

1. Holt DW, Johnston A. Delivering quality for the measurement of immunosuppressive drugs: current performance and future needs. *Accreditation & Quality Assurance* 1999;4:427-30.
2. Holt DW, Johnston A. Monitoring new immunosuppressive agents. Are the methods adequate? *Drug Metabolism & Drug Interactions* 1997;14:5-15.
3. Jones K, Johnston A, Holt D.W. Proficiency testing issues relating to sirolimus. *Clin Therapeutics* 2000;22(Suppl. B):122-32.
4. Shahangian S. Proficiency testing in laboratory medicine. Uses and limitations. *Arch Pathol Lab Med* 1998;122:15-30.
5. Hirst AD. External quality assurance. *Annals of Clinical Biochemistry* 1998;35:12-8.

Molekulare Diagnostik von Krebserkrankungen

PSA and free PSA

H. Lilja

Dept. of Clinical Chemistry, Lund University, University Hospital, Malmö, Sweden

Objectives: To investigate the clinical value of kallikrein 2 (hK2) measurements in serum, compared to free and total PSA (PSA-F and PSA-T) in early detection of prostate cancer (PCa).

Introduction: HK2 and PSA are prostatic proteases that are extensively similar (80% identity) in primary structure. *In vitro*, hK2 converts proPSA to active enzyme. PSA occurs in complexed and free forms and analysis of percent free and complexed PSA gives significant enhancement in early detection of prostate cancer (PCa). Earlier studies demonstrated that hK2 combined with total and free PSA may improve discrimination of men with BPH from men with PCa.

Methods: In PCa screening conducted in 1995-1996 in Göteborg, Sweden, 5853/9811 randomly selected men (aged 50-66 years) accepted PSA testing; those with PSA-T > 3.0 ng/mL were biopsied. Serum from 604 biopsied men (144 men with PCa) were analyzed for hK2, PSA-T, and PSA-F. We used a dual-label assay (Wallac, Finland) for free and total PSA measurements and a research assay for hK2 with functional detection limit of 5 pg/mL and less than 0.005% crossreaction with PSA.

Results: Receiver operator characteristics showed that hK2xPSA-T/PSA-F significantly enhanced the discrimination of men with PCa from those with BPH compared to PSA-T and percent free PSA. Cancer-detection rate was significantly improved (p-values < 0.05) by hK2xPSA-T/PSA-F compared to PSA-T and percent free PSA at specificity levels from 75 to 90%. HK2xPSA-T/PSA-F improved significantly the positive predictive value (PPV = 45%) compared to total PSA measurements (PPV = 31%) at cancer detection rates corresponding to a 4.0 ng/mL cut-off for total PSA.

Weakness and lacking evidence: Do we detect significant cancer? Do the cancers we do not detect represent insignificant cancer? How much further enhancement is provided by artificial neural networks?

Tumormarker-Update

P. Stieber

Institut f. Klinische Chemie, Klinikum der Universität München-Großhadern

Trotz weltweiter intensiver Forschung auf dem Gebiet der Onkologie gibt es bis heute keinen Tumormarker im eigentlichen Sinne. Dennoch wächst aufgrund einer zunehmend kritischen Anwendung und Interpretation ihre klinische Bedeutung, wobei insbesondere der klaren Indikationsstellung ein großer Einfluß auf die Aussagekraft der jeweiligen Untersuchung zukommt.

So hat in der *Screeningsituation* derzeit lediglich PSA einen wichtigen Stellenwert, wohingegen zum Zeitpunkt der *Primärdiagnostik und Differentialdiagnostik* auf der Basis zunehmender klinischer Erfahrung und EDV-unterstützter Dateninterpretation die kombinierte Bestimmung mehrerer tumorassoziierter Kenngrößen relevant wird. In der *Nachsorgesituation* sind Tumormarker hochempfindliche Parameter zur frühzeitigen Entdeckung einer Rezidivierung, in Ermangelung prospektiver randomisierter adjuvanter Interventionsstudien bleibt diese Fähigkeit jedoch häufig ohne therapeutische Konsequenz, dies gilt auch für die zumeist hohe *prognostische* Aussagekraft.

In der *Therapieeffizienzkontrolle* von malignen Tumoren stellen Tumormarker einen äußerst wichtigen Bestandteil ärztlichen Handelns dar, der bei stufendiagnostischem Vorgehen im Hinblick auf bildgebende Diagnostik sehr kostensparend sein kann.

Wie in vielen anderen Bereichen der Laboratoriumsmedizin gilt auf dem Gebiet der Tumormarker-Bestimmung und -Interpretation, daß die Qualität des Untersuchers untrennbar in die Qualität des Befundes mit einfließt. So sind neben der Auswahl eines geeigneten tumorassozierten Antigens gepaart mit einer gezielten Indikationsstellung Kenntnisse über die angewandte Methodik, das Spezifitäts- und Sensitivitäts-

profil sowie über In-vivo- und In-vitro-Einflüsse für eine korrekte Interpretation der Tumormarkerergebnisse von besonderer Bedeutung.

Mikrometastasierung

A. Rehders¹, W. Krüger², R. Jung³, R. Nezam³, M. Neumaier³

¹ Abteilung für Allgemeinchirurgie,

² Abteilung für Knochenmarktransplantation, Universitätsklinikum Eppendorf, Hamburg,

³ Abteilung für Klinische Chemie

Metastasierung ist das wesentliche, die Prognose des Krebspatienten limitierende Ereignis. Häufig besteht zum Zeitpunkt der Primärdiagnose/-therapie eine okkulte Metastasierung (Mikrometastasen), die mit herkömmlichen Methoden nicht diagnostizierbar ist. Ein angemessen empfindlicher Nachweis von Mikrometastasen gelingt zur Zeit auf der Basis der einzelnen Tumorzelle nur über die Detektion tumor-assoziiertes Genexpression. Hierfür stellt die RTPCR, mit der einzelne mRNA-Moleküle spezifisch nachgewiesen werden können, die empfindlichste Analyseverfahren dar. Da eine sogenannte Background-Transkription tumorassoziiert exprimierter Gene auch in verschiedenen Normalgeweben erfolgen kann, wird die diagnostische Spezifität durch die Wahl des Probenmaterials einerseits sowie die Probenmenge andererseits beeinflusst. Hinzu kommt eine Vielzahl von Einflußfaktoren aus dem präanalytischen sowie analytischen Bereich des Untersuchungsgangs.

Die genannten Aspekte sind mit den bisher weithin verwendeten nicht-quantitativen PCR-Verfahren schwierig zu beherrschen. Dies mag für die uneinheitliche Beurteilung der klinischen Signifikanz bei verschiedenen Testsystemen bzw. Karzinomtypen mitverantwortlich sein. Die Entwicklung robuster quantitativer PCR-Technologien erlaubt nunmehr die Kontrolle der wesentlichen Einflußgrößen, die Definition von Cut-off-Werten sowie die Normalisierung auf House-Keeping Gene. Hierdurch sollte es künftig möglich sein, die bisher aufgrund ungenügender Standardisierung schlecht vergleichbaren Ergebnisse klinischer Studien zur Mikrometastasierung bei soliden Tumoren zu überwinden. Beispiele einer klinischen-Studie zur Lymphknotenmetastasierung beim Ösophaguskarzinom werden dargestellt.

p53 and p53-Autoantibodies

M. Montenarh

Medizinische Biochemie und Molekularbiologie, Universität des Saarlandes, Gebäude 44, 66424 Homburg

p53 is a growth suppressor protein which is mutated or otherwise modified in the vast majority of human tumors. Antibodies against the p53 protein, so called p53 autoantibodies, were detected in patients with a variety of different types of cancer. There are a few reports showing that p53 autoantibodies may also be present in virus infected patients or in patients with an autoimmune disease. The incidence of p53 autoantibodies was in the range of 10-25% of patients

with breast cancer, colorectal cancer and bladder cancer and low for patients with prostate cancer. We found a good correlation for the presence of p53 autoantibodies and malignancy and a bad prognosis. We have some indications that the presence of p53 autoantibodies may reflect an undetected tumor. Since p53 autoantibodies are not specific for one type of cancer additional parameters and markers are necessary for a clear prognosis. However, p53 autoantibodies may support diagnosis in cases where a tumor is hardly detected by conventional methods.

Epidermal Growth factor Receptor (EGFR) and c-ErbB-2 in Diagnosis and Treatment of Cancer

B. Brandt¹, H. Bürger², T. Dittmar³, A. Merschjann⁴, K. S. Zänker³, G. Assmann¹

¹ Institut für Klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin,

² Gerhard-Domagk-Institut für Pathologie, Westf. Wilhelms-Universität Münster,

³ Institut für Immunologie, Universität Witten/Herdecke

In addition to being implicated in organ morphogenesis, maintenance and repair, the amplification and overexpression of the epidermal growth factor receptor (egfr, c-erbB-1) and c-erbB-2 have been outlined to play an important role in the initiation and early progression of several types of cancer, e.g. breast, ovarian, oral, bladder, prostate and lung cancer. The receptors display with a intrinsic tyrosine kinase activity, which is activated by EGFR by ligands and allosteric events for c-erbB-2. The EGFR tyrosyl-phosphorylates itself, the c-erbB-2 receptor and numerous intermediary effector molecules. This initiates many signaling pathways, some of which prolong and attenuate receptor signaling. The integrated biological responses to this signaling are pleiotropic comprising proliferation, apoptosis, enhanced cell motility, and differentiation.

Therefore, the dysregulation of both genes are assumed to be a part of the genetic progression cascade for the invasive and metastatic phenotype of cancer.

Elucidating the function of EGFR and c-erbB-2 gave effort to the development of new therapeutic approaches which may improve the secondary and tertiary prevention of breast, oral, prostate and lung cancer. Those approaches comprise targeting of the receptors by antibodies or antibody constructs with toxins and liposomes, down-regulation of the receptors' expression by intracellular expressed antibody fragments, viral repressors or anti-sense oligonucleotides, and the inhibition of the downstream signals of the receptors at various levels. Predictive laboratory diagnostics is mandatory for the indication of patients who will benefit from distinct therapeutical approaches.

Infektion und Immunabwehr

Schnelle Identifizierung von pathogenen Mikroorganismen in Blutkulturen

I. B. Autenrieth, V. Kempf

Institut für Medizinische Mikrobiologie, Universitätsklinikum Tübingen

Das Sepsissyndrom gehört zu den häufigsten Todesursachen bei hospitalisierten Patienten. Die Mortalität septikämischer Patienten beträgt zwischen 30% und 70% und hängt von verschiedenen Faktoren wie dem ätiologischen Agens (Mikroorganismus) sowie von Wirtsfaktoren wie Alter und Grundkrankheit ab. Die Mehrzahl der Septikämien wird von einer begrenzten Anzahl von Mikroorganismen wie *Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp., *Enterococcus* spp., *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas aeruginosa* und *Candida* spp. hervorgerufen. Die schnelle Identifikation von Mikroorganismen bei septikämischen Patienten ist entscheidend für eine schnelle und zielgerichtete Antibiotikatherapie, zur Vermeidung unnötiger Therapien von Kontaminanten, sowie zur Reduktion der Kosten für Antibiotikatherapie im Krankenhaus. Die Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung mit fluoreszenzmarkierten r-DNA-Sonden erlaubt die Detektion und Identifizierung von Pathogenen ohne Kultur und Biotypisierung. In einer Studie konnten wir kürzlich zeigen, daß es mit einem Set an unterschiedlichen Proben gelingt, 95% der bei Septikämie infrage kommenden potentiellen Mikroorganismen eine Diagnose innerhalb von 2-4 Stunden in Blutkulturmaterialien zu stellen. Somit ist die Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung eine schnelle und sichere Methode zur Identifikation von Mikroorganismen in Blutkulturen septikämischer Patienten und gestattet somit eine frühere selektive zielgerichtete antimikrobielle Therapie. Weitere Anwendungsmöglichkeiten von der Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung wie Sputum-Diagnostik, Wundabstriche, *Helicobacter pylori*-Diagnostik werden diskutiert.

Aktuelle Aspekte der Syphilis-Diagnostik

H.-J. Hagedorn

Medizinaluntersuchungsstelle Herford

Die Syphilis-Epidemiologie in Deutschland wird derzeit wesentlich geprägt durch den dramatischen Anstieg der Syphilis in Osteuropa. Bei einer aktuellen Analyse der Syphilis-Befunde der Mutterschaftsvorsorge waren von 1000 Schwangeren 4,4 seropositiv, 71% der Schwangeren mit Treponemenantikörpern stammen vermutlich aus Osteuropa, bei seroreaktiven Prostituierten sogar 80%.

Wieweit das etablierte Konzept der Syphilisdiagnostik durch neue Methoden modifiziert werden kann, muß differenziert betrachtet werden. Als Syphilis-Screening-Test kann statt des TPHA-/TPPA-Tests der polyvalente Enzymimmunoassay eingesetzt werden. Ein paralleles Screening mit einem IgG- und IgM-EIA ist aus Kostengründen nicht sinnvoll. Als Bestätigungstest ist weltweit der FTA-ABS-Test etabliert. Grundsätzlich ist hierfür auch der Immunblot geeignet. Für die Beurteilung der Therapiebedürftigkeit und

die Therapiekontrolle sind Standard der 19S-IgM-FTA-ABS-Test und die Lipoid-Antikörperbestimmung (VDRL-Test, Cardiolipin-KBR). Ob IgM-EIA-Tests den 19S-IgM-FTA-ABS-Test ersetzen können, ist derzeit nicht abschließend zu beurteilen. So ist z. B. die Sensitivität des Captia Syphilis M-Tests der des 19S-IgM-Tests bei der Frühsyphilis weitgehend vergleichbar. Dagegen weist dieser IgM-EIA-Test Detektionslücken bei der Diagnostik der Spätsyphilis und von Reinfektionen auf. Auch der IgM-Immunblot als alternative Methode ist kritisch zu sehen. Ein wesentlicher Nachteil ist die fehlende Möglichkeit der Quantifizierung der Befunde. Somit ist eine Aussage zu einer eventuellen Behandlungsindikation und ein Monitoring des Therapieerfolges nur bedingt möglich. Zudem gibt es zahlreiche diskrepante Befunde zwischen 19S-IgM-FTA-ABS-Test, IgM-EIA und Immunblot. Nach den eigenen Erfahrungen kann auf die Durchführung des 19S-IgM-FTA-ABS-Tests als Referenztest der IgM-Antikörperdiagnostik zur Zeit nicht verzichtet werden.

Respiratorische und vaskuläre Infektionen durch *Chlamydia pneumoniae*

M. Maaß

Institut für Medizinische Mikrobiologie und Hygiene, Medizinische Universität zu Lübeck, 23538 Lübeck

C. pneumoniae ist ein schwer kultivierbares respiratorisches Pathogen von großer Häufigkeit: die Durchseuchung beginnt im Kindesalter und erreicht 80%. Die Infektionen sind oft subklinisch, verursachen aber ca. 5% der Pneumonien, Pharyngitiden und Sinusitiden und können persistieren. Eine zuverlässige klinisch-relevante Serodiagnostik ist nur bei Erstinfektion möglich. Die Seroprävalenz ist derzeit speziespezifisch nur mit dem Mikroimmunofluoreszenz-Test zu bestimmen. Aufgrund der niedrigen Isolationsraten für das obligat intrazelluläre Bakterium ist bei schweren respiratorischen Infekten die PCR aus BAL-Material diagnostische Methode der Wahl.

Überraschenderweise ist das Bakterium auch in ca. 25% der arteriosklerotischen Gefäßläsionen von Jugend an nachweisbar. Offenbar agieren Blutmonozyten als Vektoren für die systemische Dissemination der Erreger. Ob die Gefäßinfektion pathogenetisch relevant oder Epiphänomen ist, ist unklar. Die Isolation lebender Bakterien aus den kranken Gefäßen ist aber ohne Präzedenz. In Gefäßzellen löst die Infektion in vitro die für Arteriosklerose charakteristischen Veränderungen aus, so daß eine infektiöse Komponente der Atherogenese plausibel scheint. Respiratorische Infekte sind durch Makrolide erfassbar, ob der Gefäßbefall antibiotisch beeinflussbar ist, wird derzeit untersucht. Ein Antibiotika-refraktärer Persistenzstatus erschwert die Therapie. Einzelbefunde assoziieren den Erreger auch mit inflammatorischen ZNS-Erkrankungen wie Multipler Sklerose. Ein Neurotropismus ist zwar denkbar, doch sind diese Befunde noch nicht einzuordnen.

Toxoplasmose-Diagnostik in der Schwangerschaft

U. Groß

Abteilung für Bakteriologie der Georg-August-Universität Göttingen

Für das Toxoplasmose-Screening während der Schwangerschaft wurden Empfehlungen veröffentlicht [1], die zunächst einen Suchtest vorsehen. Dieser sollte möglichst die Bestimmung von spezifischem Gesamt-Immunglobulin ermöglichen und nicht nur die von IgG-Antikörpern. Bei negativem Suchtest, liegt keine protektive Immunität vor und Serumkontrollen alle 8 (-12) Wochen sind erforderlich.

Ist der Suchtest positiv, so muß das Serum auf Vorhandensein von IgM-Antikörpern untersucht werden. Bei fehlendem Nachweis von IgM-Antikörpern hat die Infektion vor längerer Zeit stattgefunden und es besteht keine Infektionsgefahr für den Foeten. Sind sowohl IgG- als auch IgM-Antikörper nachweisbar, hängt die Interpretation von der Antikörperkonzentration ab: Hohe IgM-Antikörperkonzentrationen sprechen für eine aktive/akute Infektion. Die Verdachtsdiagnose muß durch eine Serumkontrolle nach 2-3 Wochen bestätigt werden. Da während der Schwangerschaft nicht selten eine Persistenz von IgM-Antikörpern gegen *T. gondii* beobachtet wird, sollten jedoch gerade bei unklaren Befunden Speziallaboratorien für das weitere Procedere herangezogen werden [2], denen mit Hilfe weiterer Testverfahren in der Regel eine genauere Bestimmung des Infektionszeitpunktes bzw. -risikos für den Foeten gelingt: IgG-Avidität, IgA-/IgE-Testverfahren, Immunoblot, vergleichendes Mutter-Kind-Profil [3], sowie PCR und Anzucht des Erregers aus Fruchtwasser, EDTA-Blut oder anderen Patientenmaterialien.

Literatur

1. MIQ-Parasitosen. Gustav Fischer Verlag, Stuttgart: 55-60 (1998).
2. RKI: Beratungsstellen für die Laboratoriumsdiagnostik sowie Klinik und Therapie der Toxoplasma-Infektion bei der Schwangeren- und Kinder-Vorsorge. Bundesgesundheitsbl. 1999;42:610-611.
3. Groß U et al. Comparative IgG-antibody profile between mother and child (CGMC test) for diagnosis of congenital toxoplasmosis. J Clin Microbiol 2000;38: im Druck.

Hemorrhagic Fevers and Other Imported Virus Infections

H.-D. Klenk

Institut für Virologie, Klinikum der Philipps Universität, Marburg

Hemorrhagic fevers are caused by Marburg virus, Ebola virus, Lassa virus, and a number of other viruses endemic in central Africa and other tropical areas from which they are occasionally imported into other regions of the world. All hemorrhagic fevers are zoonoses, and the viruses involved are typical examples of emerging pathogens. Outbreaks are unpredictable, and the course of the infections impresses by violence and high mortality. Since their first appearance, these viruses have therefore been a matter of considerable public concern and scientific interest. Research on these viruses has been impeded for a long time by their extreme

pathogenicity and by the necessity to use complicated biosafety containments. With the advent of DNA technology, however, substantial scientific progress has been made in recent years. There is now detailed knowledge on the structure and replication of these viruses. We are beginning to understand some of the mechanisms underlying pathogenicity. New diagnostic tools are available that should give better insight into the ecology of these viruses. New immunization strategies have been developed that promise to have high prophylactic potential.

Neue Methoden in der Laboratoriumsmedizin

Sequence Detection Technologies for Molecular Medicine

J. W. Efcavitch

Synthesis and Arrays Business, Applied Biosystems, Foster City, CA, USA

In the past clinical chemistry has been dominated by the analysis of surrogate markers for cellular pathologies. In the post-genomic era, which will start with the completion of the sequencing of the human genome, it is anticipated that there will be a growing demand for molecular techniques in the clinical laboratory that will allow the segregation of diseases not by phenotype but by genotype. This demand is being generated by the increasing realization that many disease phenotypes have as their root cause many different molecular events that may dictate individualized treatments. This individualized molecular medicine approach recognizes not only the specific molecular causality of diseases and hence the need for specific treatments but also the fact that there are differential responses to therapeutics based on individualized drug metabolism and clearance kinetics. In my presentation I intend to describe a variety of genetic analysis technologies which will be useful for disease detection, disease characterization, and patient response segregation.

We define genetic analysis as the characterization of changes to the nucleic acid structure of a genome. There exists a spectrum of relevant changes to the genome ranging from single nucleotide mutations to multiple insertions/deletions to expansions of Short Tandem Repeats. I will describe a number of different technologies based on fluorescent detection that can be used to characterize specific nucleotide sequence changes. Some of these methods like 5'-nuclease assays are better suited to the detection of a relatively small number of previously known sequence changes that are relatively static. Other methods like DNA sequencing are better suited to monitoring extensive sequence changes in a target or changes that arise spontaneously in a target. I will describe the current state of the art for each of these technologies and attempt to relate evolutions to each which will make them better suited to use in the clinical laboratory.

High density DNA arrays

P. Cullen¹, U. Seedorf^{1,2}, H. Funke^{2,3}

¹ OGHAM GmbH, Mendelstr. 11, 48149 Münster,

² Institut für Arterioskleroseforschung an der Universität Münster,

³ Institut für Klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin, Westfälische Wilhelms-Universität Münster

In the past three years, high density DNA arrays have burst onto the scene in biomedical research and laboratory medicine. Combining as they do the virtues of high information density and enormous versatility, these tools will revolutionize much of molecular diagnostics. The two main areas of use are in sequence analysis and expression monitoring. In theory, however, more exotic uses are possible. For example it is conceivable that DNA chips may find a use as parallel computing devices. In sequence analysis, several commercial systems are already available such as that for the sequencing of the p53 oncogene. At present, however, the very large number of features needed for full gene sequencing and problems with quality control still limit the application of high density DNA arrays in high-throughput DNA sequencing. By contrast, high density DNA arrays have already become the method of choice for massively parallel analysis of gene expression. The imminent completion of the human genome project will soon lead to the development of DNA arrays containing all expressed human genes. The challenge now is to develop the bioinformatic tools required to meaningfully interpret the wealth of data generated by such studies. In the near future, high density DNA arrays will be incorporated into lab-on-a-chip systems which will allow rapid, reliable and economical performance of complex sequencing and gene expression studies without large investments in infrastructure. The use of such devices at the point of care will also become feasible. Finally, no discussion of DNA arrays would be complete without mentioning the application of this technology to the development of protein chips. Such proteomic chips will be more difficult to develop, but will find broad applications in the field of medical diagnostics.

Microfluidic Devices for Biomedical Applications

G. Blankenstein

STEAG microParts GmbH, Hauert 7, D-44227 Dortmund

STEAG microParts has built up a broad competence in design, development, and fabrication of products within the field of life science application and medical diagnostics.

These microfluidic disposables, e.g. used for PCR, genomics/proteomics, immunoassays, hematology or high throughput screening, integrate multiple functions. They may contain microstructures for sample preparation and collection, for mixing and dosing, deposition of chemicals or include sensors in detection zones.

STEAG microParts technological portfolio is allowing rapid prototyping as well as mass fabrication of plastic disposables by micro injection molding or hot embossing under GMP and ISO9001. STEAG microParts competence in sur-

face treatment is giving the opportunity to modify a surface for a desired application to increase e.g. the wettability or to create a bioactive surface.

MALDI-Massenspektrometrie in Proteomics und Genomics

F. Hillenkamp

Institut für medizinische Physik und Biophysik, Universität Münster

Zusammen mit der Elektrospray-Massenspektrometrie (ESI-MS) hat die Matrix-Unterstützte Laser-Desorption/Ionisations-Massenspektrometrie in den letzten zehn Jahren eine große Bedeutung erlangt für die Identifikation und Strukturanalyse biologischer Makromoleküle. Herausragende Eigenschaften beider Verfahren sind die hohe Spezifität der analytischen Information im Vergleich zu chromatographischen Verfahren, eine Nachweispfindlichkeit im Subpicomolbereich, ein zugänglicher Massenbereich bis zu einigen hunderttausend Dalton sowie die prinzipielle Einfachheit und Geschwindigkeit der Analysen, die auch eine weitgehende Automatisierung zulassen. In der überwiegenden Zahl der Anwendungen wird die Massenspektrometrie in Kombination mit molekularbiologischen oder anderen enzymatischen Methoden eingesetzt. Dies erfordert eine sorgfältige Abstimmung der Prozeduren dieser Methoden aufeinander, z. B. die Verwendung von und Optimierung auf MALDI-verträgliche Puffersysteme sowie in der Regel eine Probenaufreinigung, die vor der MALDI-Präparation störende Komponenten wie z. B. Phosphatpuffer und ionische Detergenzien entfernt.

Aus der Proteinanalytik, die heutzutage in der Routineanalytik fast ausschließlich in einer Proteinidentifizierung über die Primärstruktur anhand von Datenbanken besteht, sind ESI- und MALDI-MS inzwischen nicht mehr wegzudenken. Weitergehende Analysen wie die Aufklärung der Glykosylierung oder Phosphorylierung oder Bestimmung von Sekundär-, Tertiär- und Quartärstruktur sind dagegen bisher noch weitgehend Bestandteil von Forschungsprojekten. Dem Einsatz der Massenspektrometrie in der genomischen Analytik stehen weitaus größere Probleme im Weg, die in der Struktur dieser Makromoleküle begründet sind. Zwar ist auch hier der Nachweis großer Oligodesoxynukleotide bis hinauf zu 2100meren mit UV-MALDI und einigen Millionen Dalton mit ESI berichtet worden, doch haben diese Ergebnisse bisher für die praktische Analytik noch keine Bedeutung erlangt. Nur für die Identifizierung von einzelnen Polymorphismen wie z. B. „single nucleotide polymorphisms (SNP)“ und Mikrosatelliten sind bisher Routineverfahren entwickelt worden. Hier kommen Oligonukleotide mit weniger als 50 Basen zum Einsatz.

Der Vortrag wird den Stand der Technik zusammenfassen und erwartete zukünftige Entwicklungen vorstellen.

Expertensysteme und Automatisierung

M. K. Schwartz

New York, USA

Ohne Abstract

Endokrinologie

Molekulare Routinediagnostik in der Endokrinologie

W. Höppner

IHF-Institut für Hormon- und Fortpflanzungsforschung an der Universität Hamburg

Basierend auf den immer schneller zunehmenden Kenntnissen der Molekulargenetik werden molekularbiologische Untersuchungsverfahren in der Medizin auch zunehmend zur Diagnostik endokrinologischer Erkrankungen eingesetzt. Dabei ermöglichen die molekulargenetischen Testverfahren Aussagen, die mit klassischen Verfahren nicht möglich sind. Der wesentliche Unterschied zur klassischen Diagnostik ist die Möglichkeit, prädiktive Aussagen zu treffen. Daraus ergibt sich die Option präventiv-therapeutische Konzepte zu entwickeln. Ist die Korrelation zwischen dem Genotyp und dem daraus resultierenden Phänotyp bekannt, sind auch prognostische Aussagen möglich. Gerade endokrinologische Erkrankungen sind häufig sehr komplex. Verschiedene Symptome entwickeln sich zeitlich gestaffelt. Die molekulare Analytik ist hier ein wichtiges Instrument zur Bestätigungsdagnostik. Voraussetzung für den Einsatz der molekularen Diagnostik in der Routine ist die genaue Kenntnis des Gens, das für die Entstehung eines erblichen Krankheitsbildes verantwortlich ist, der Mechanismen, über die Genprodukte ihre physiologische Wirkung entfalten sowie der Auswirkung von Mutationen.

Erbliche Disposition für Hormonüber- oder -unterfunktionen, Hormonsynthesestörungen, Hormonresistenzen sowie endokrine Tumore lassen sich in einigen Fällen bereits molekulargenetisch sicher diagnostizieren.

Molekulare Diagnostik wird heute überwiegend mit Methoden durchgeführt, die ursprünglich für die Forschung entwickelt wurden. Sie sind zeit- und personalintensiv und erfordern ein hohes Maß an Erfahrung. Die Standardisierung von Verfahren und die Kontrolle der Qualität ist noch nicht in dem Ausmaß gewährleistet, wie bei den klassischen klinisch-chemischen Verfahren. Mit der Einführung innovativer automatisierbarer Technologien wird sich die molekulare Diagnostik in der Medizin weiter durchsetzen.

Postmenopausale Osteoporose

J. Pfeilschifter

Berufsgenossenschaftliche Kliniken Bergmannsheil; Medizinische Klinik, Bochum

Bei einem Teil der Frauen ist der Knochenumbau in den ersten 5-10 Jahren nach der Menopause erheblich gesteigert. Die Knochenmasse kann in diesem Zeitraum bis zu 30% abnehmen. Frauen, die bereits eine niedrige Knochenmasse in die Menopause einbringen, haben dann ein hohes Risiko für Wirbelkörper- und in höherem Lebensalter für Schenkelhalsfrakturen. Das in die Menopause eingebrachte Risiko läßt sich mit einer DXA-Messung der Knochenmasse heute präzise erfassen. Die Abschätzung des postmenopausalen Knochenverlusts und damit des Gesamtrisikos der Entwick-

lung einer Osteoporose ist beim individuellen Patienten dagegen noch schwierig. „Knochen-Formationsmarker“ im Blut (knochenspezifische AP, Osteocalcin, Prokollagen Typ I Propeptide) und „Abbaumarker“ in Blut und Urin (Pyridinolin, Desoxypyridinolin, CTX, NTX, BSP, Tartrat-resistente saure Phosphatase) erlauben relativ spezifisch und sensitiv eine Quantifizierung des postmenopausalen Knochenumbaus, der wiederum mit dem Ausmaß des Knochenverlusts und der Frakturgefährdung verknüpft ist. Auch Hormone und Zytokine sind pathogenetisch attraktive Parameter zur Vorhersage des frühpostmenopausalen Knochenverlusts. Für ein generelles Screening außerhalb von kontrollierten Studien sind diese Parameter aber derzeit noch nicht geeignet, da ihre Vorhersagekraft im Einzelfall zu unpräzise oder unklar ist. Ihre klinische Wertigkeit liegt derzeit vor allem in der Mithilfe bei der Therapieentscheidung bei ausgewählten Frauen mit unklarem Risikoprofil durch den osteologischen Spezialisten und im Monitoring des Therapieansprechens bei osteologischen Problempatientinnen.

Beckman Coulter GmbH
Europark Fichtenhain B13, 47807 Krefeld
Telefon: (0 21 51) 33 37 81, Fax: (0 21 51) 33 36 51

Genmutationen endokriner Syndrome

F. Raue, K. Frank-Raue, S. Rondot, E. Schulze

Endokrinologische Gemeinschaftspraxis - Molekulargenetisches Labor, Brückenstr. 21, 69120 Heidelberg

Bei einer steigenden Zahl endokriner Erkrankungen kann eine molekulargenetische Diagnostik, die die klassische biochemische Diagnostik ergänzt und ein Familienscreening mit Erfassung der Genträger im präsymptomatischen Stadium ermöglicht, durchgeführt werden. Dies soll exemplarisch an zwei etablierten Krankheitsbildern dargestellt werden.

MEN 2 - Die multiple endokrine Neoplasie Typ 2 ist ein autosomal dominant vererbbares Krankheitsbild mit Tumoren der C-Zellen der Schilddrüse (medulläres Schilddrüsenkarzinom), des Nebennierenmarkes und der Nebenschilddrüsen. Ursache sind Mutationen im RET-Protoonkogen, das für ein Onkogen codiert. Indikationen zur Bestimmung der RET-Mutation sind: Patienten mit klinisch und biochemisch nachgewiesenem MEN-2-Syndrom zur Sicherung der Diagnose (Indexpatient), Familienmitglieder von genetisch gesicherten MEN-2-Patienten (Familienscreening vor dem 6. Lebensjahr), Patienten mit medullärem Schilddrüsenkarzinom (25% kommen im Rahmen des MEN-2-Syndroms vor). Durch Mutationsnachweis läßt sich die Diagnose zweifelsfrei sichern und erlaubt im Familienscreening den Ausschluß der genetisch nicht Betroffenen von weiteren Untersuchungen sowie bei Betroffenen eine präsymptomatische Thyreoidektomie des medullären Schilddrüsenkarzinoms.

AGS - Das adrenogenitales Syndrom ist ein autosomal rezessiv vererbbares Leiden mit Enzymdefekten der Steroidbiosynthese, das sich häufig in vermehrter Androgenproduktion äußert. Klinisch findet sich je nach Enzymaktivität ein unterschiedlicher Grad von Virilisierung und Cyclusstörungen. Molekulargenetisch sind homocygote Mutationen im 21-Hydroxylase-Gen (CYP21B) bei klassischem AGS sowie homo- und heterocygote Mutationen mit großer Variabilität bei nicht klassischer Form beschrieben. Indikation zur Bestimmung der CYP21B-Mutationen sind: Neugeborene mit Virilisierung oder Salzverlust-Syndrom bzw. erhöhte 17OH-Progesteron-Werte im Neugeborenen-Screening, Geschwister und Partner von AGS-Indexpatienten und Patientinnen mit Hyperandrogenämie (Hirsutismus, Fertilitätsstörungen) besonders bei Kinderwunsch. Bei Verdacht auf Schwangerschaft mit klassischem homocygotem AGS besteht die Möglichkeit einer Pränataltherapie mit Dexamethason und Diagnosesicherung durch Genanalyse der Chorionbiopsie.

Unerfüllter Kinderwunsch - endokrine Abklärung

H. G. Bohnet, K. M.: Martens

Hamburger Institut für Endokrinologie

Der unerfüllte Kinderwunsch erfordert die Fertilitätsabklärung beider Partner, wobei insbesondere für die Beurteilung der Eizellqualität auch Stoffwechselstörungen von großer Bedeutung sind.

Die eingeschränkte Oozytenqualität dürfte entscheidend die im internationalen Vergleich recht niedrige baby-take-home-Rate der assistierten Methoden zur Reproduktion be-

einflussen. Bei rasanter Entwicklung dieser Methoden wird die endokrine Abklärung häufig vernachlässigt.

Insbesondere bei Übergewichtigen (20% unseres Krankenguts) findet sich in 37% eine Hyperandrogenämie, in ca. 25% ein erhöhter LH-Tonus. In ca. 20% liegt bei Übergewicht und/oder Nikotinabusus eine Hyperhomocysteinämie vor bei häufig gleichzeitigem Folatmangel. Bei der Hälfte der übergewichtigen Frauen zeigt sich ein metabolisches Syndrom mit einer Hyperinsulinämie. Alle genannten Störungen korrelieren mit einer erhöhten Abortrate.

Eine leichte/latente Hyperprolaktinämie wird in 1/3 aller Patientinnen beobachtet und weist neben einer erhöhten Streifensensibilität in ca. 5% auf eine manifeste, in ca. 20% auf eine latente Hypothyreose hin. Schilddrüsenantikörper (v. a. Anti-TPO) finden sich in ca. 10% der Euthyreoten, positive Titer verdoppeln die spontane Abortrate von 7 auf 15%. Die Gabe von Levothyroxin führt innerhalb 6 Monaten nicht nur zu einem signifikanten Anti-TPO-Titerabfall in 2/3 der Euthyreoten, sondern auch zur Verminderung der Abortrate.

Zur Verbesserung der Oozytenqualität im Rahmen der Kinderwunschbehandlung ist somit eine ausführliche endokrinologische Abklärung insbesondere vor Anwendung der assistierten Methoden zur Reproduktion zu fordern, welche u. a. die Optimierung des Stoffwechsels zum Ziel haben sollte.

Referenzmethoden für Steroidhormone

L. Siekmann

Institut für Klinische Biochemie der Universität Bonn

Steroidhormone werden in menschlichen Körperflüssigkeiten unter Anwendung immunologischer Bestimmungsverfahren quantitativ bestimmt. In Zukunft werden sich die in Europa vertriebenen Test-Kits an den Maßstäben der In-vitro Diagnostica Direktive der EU-Kommission messen lassen müssen: Werte, die Kontrollen und Kalibratoren zugeordnet werden, müssen auf Referenz-Methoden und/oder Materialien höherer Ordnung rückführbar sein. Das Prinzip der Rückführbarkeit auf Referenzmethoden ist in Deutschland schon seit etwa 12 Jahren in der klinisch-chemischen Analytik etabliert. Die Zielwerte in Kontrollproben für die interne Richtigkeitskontrolle und für die externe Qualitätskontrolle werden mit Referenzmethoden festgelegt, die auf dem Prinzip der massenspektrometrischen Isotopenverdünnungsanalyse beruhen.

Einen ersten Überblick über die Zuverlässigkeit der Hormontest-Kits kann man aus den Auswertungen der Ringversuchsergebnisse der DGKC/DGE entnehmen, die eine nach KIT-Herstellern getrennte Beurteilung ermöglichen.

Die Kontrollproben für die Ringversuche bestehen in der Regel aus humanen Serum-pools, die mit den reinen Steroidhormonen aufgestockt wurden. Es fehlen daher die Metabolite, die in Patientenproben mit erhöhten Hormonkonzentrationen auftreten und die Anlaß zu Kreuzreaktionen geben können. Die derzeit angewandten Kontrollproben haben daher im Hinblick auf Spezifitätsprobleme gegenüber den Patientenproben eine häufig vereinfachte Matrix, da ihnen die charakteristischen Metabolite fehlen.

Zur Beurteilung einiger häufig benutzter Routine-Hormonbestimmungsverfahren wurden daher Patientenproben verwendet, in denen Vergleichsanalysen mit Referenzmetho-

den durchgeführt wurden. Es zeigte sich, daß bei der Cortisol-Bestimmung einige Test-Verfahren sehr gute Übereinstimmungen mit der Referenzmethode liefern, während andere offenbar durch fehlerhafte Einstellung der Kalibratoren deutliche Abweichungen aufweisen. Beim Progesteron finden sich bei einigen Tests besonders im niedrigen Konzentrationsbereich kaum noch akzeptable Abweichungen. Beim Aldosteron findet man Ergebnisse, die im Vergleich zur Referenzmethode um bis zu 100% zu hoch liegen.

Gerinnung und Fibrinolyse

Screeningmethoden

C. M. Schambeck

Zentrallabor, Medizinische Klinik, Bayerische Julius-Maximilians-Universität Würzburg

Screeningmethoden sind im labormedizinischen Sinne Suchteste, die mit größtmöglicher Sensitivität pathologische Zustände erfassen. Ein positiver Befund wird durch spezifischere Methoden weiter abgeklärt. Gerne wird für dieses Vorgehen der Begriff „Stufendiagnostik“ gebraucht.

Klassische Screeningteste aus dem hämostaseologischen Bereich sind die Globalteste Thromboplastinzeit n. Quick und APTT, die Störungen des extrinsischen wie intrinsischen Systems aufdecken.

Nach Störungen der primären Hämostase wurde lange Zeit mit der wenig sensitiven *in vivo*-Blutungszeit gescreent. Einen Fortschritt brachte die Einführung der Plättchenhämostase-Kapazität (PFA-100®), die als Verschlusszeit angegeben wird. Primäre und sekundäre Hämostase sind beim von Willebrand-Jürgens-Syndrom beeinträchtigt. Dieses häufigste angeborene Blutungsübel wird mittels Ristocetin-Cofaktor oder Kollagenbindungsaktivität, für die nun kommerzielle Assays zur Verfügung stehen, erkannt. Bei positivem Befund sind Multimerendifferenzierung, Ristocetin-induzierte Plättchenagglutination usw. gerechtfertigt.

Auch zur Diagnostik thrombophiler Diathesen haben Suchteste ihren Stellenwert. Heutige funktionelle Assays zur Detektion der APC-Resistenz sieben mit höchster Sensitivität Patienten mit der zugrundeliegenden Faktor-V-Leiden-Mutation aus. Assays, die die Kapazität des Protein-C-Pfades messen, vermögen mögliche Defekte wie Faktor-V-Leiden-Mutation, Protein-S- und C-Mangel nicht in gleicher Weise zu erkennen. So entgehen dem ProC® Global-Assay beim etablierten Grenzwert von 0,8 ca. 30% d. F. mit einem Protein S-Mangel. In die Waagschale wird oftmals nicht so sehr die Screeningfunktion des ProC® Global geworfen, sondern vielmehr dessen prognostische Aussagekraft. Es wurde auch nach Suchtesten für den bekannten Faktor-II-Polymorphismus gefahndet. Doch weder chromogener Faktor-II-Assay noch die Ratio aus Faktor II und X sind hilfreich.

Thrombophiliediagnostik

R. Junker¹, U. Nowak-Göttl²

¹ Institut für Klinische Chemie,

² Klinik für Pädiatrische Onkologie, Universitätsklinik Münster

Der Begriff Thrombophilie beschreibt i. d. R. das rezidivierende Auftreten venöser Thrombosen, häufig auch die Thrombosemanifestation ohne klinischen Auslöser und/oder im frühen Lebensalter. Erworbene und hereditäre Defekte innerhalb des Hämostasesystems sind die häufigste Ursache für die Thrombophilie.

Zu den etablierten hämostaseologischen Defekten gehören die Resistenz gegenüber aktiviertem Protein C (APC-Resistenz), in der Regel zurückzuführen auf die FV-G1691A-Mutation, daneben die FII-G20210A-Mutation, Protein-S-, Protein-C- und Antithrombinmangel, sowie Antiphospholipidantikörper/Lupus-Antikoagulanz. Deutlich seltener sind Dysfibrinogenämie und Plasminogenmangel. Neuere Studien zeigen, daß erhöhte Lp(a)-Plasmaspiegel ebenso wie erhöhte Faktor-VIII- und andere Einzelfaktorspiegel das Risiko für venöse Thrombosen erhöht. Dagegen wird die Bedeutung von Störungen im Homozysteinstoffwechsel kontrovers beurteilt.

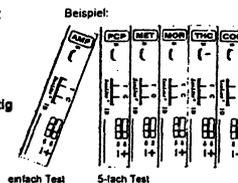
Die Diagnostik bei Verdacht auf Vorliegen einer Thrombophilie umfaßt die Bestimmung der genannten Risikofaktoren. Es ist derzeit fraglich, ob jeder Thrombosepatient - insbesondere bei Vorliegen erworbener endogener oder exogener Auslöser (z. B. maligne und rheumatische Erkrankungen, Immobilisierung, operative Eingriffe, Schwangerschaft, orale Kontrazeption) - vollständig labordiagnostisch untersucht werden soll. Auch bezüglich des Screenings auf Vorliegen prothrombotischer Risikofaktoren vor Schwangerschaft oder oraler Kontrazeption kann derzeit keine allgemeingültige Empfehlung ausgesprochen werden. Unsicherheit besteht darüber hinaus bei der Frage, ob der Nachweis eines Risikofaktors beim asymptomatischen Patienten eine antikoagulatorische Primärprophylaxe rechtfertigen kann. Die Indikation zur umfassenden Thrombophiliediagnostik ist daher in jedem Einzelfall zu prüfen und individuell zu beurteilen.

DROGEN SCREENING im URIN mit *SunLine*® Screen

- Sie benötigen 4 Tropfen Urin - weiter nichts
- Sie zahlen nur den Test, den Sie tatsächlich benötigen
- Sie benutzen FDA geprüfte Qualität
- Sie benötigen kein speziell ausgebildetes Personal

SunLine ist:

- empfindlich
- spezifisch
- einfach
- schnell
- kostengünstig
- sicher



Die immunologischen *SunLine* Tests sind beschriftungsfähige Kartentests, die als Einzeltests oder Kombinations-tests erhältlich sind.



Verbindungsstraße 27
40723 Hilden
Telefon: 0 21 03 / 68 36
Telefax: 0 21 03 / 8 83 47

Das Antiphospholipid-Syndrom

F. Bergmann

Labor Keeser & Arndt u. Partner, Gerinnungslabor, Hamburg

Antiphospholipid Antikörper (APA) sind eine heterogene Gruppe von Immunglobulinen des Typs IgG, IgM, seltener IgA, welche sich gegen gerinnungsaktive Phospholipid-Protein-Komplexe richten. Sie zählen zu den häufigsten erworbenen Inhibitoren der Gerinnung und verursachen paradoxerweise arterielle und/oder venöse Thrombosen. In Thrombosekollektiven sind sie bei 10-20% der Patienten zu finden. Verschiedene Erklärungsansätze für den Wirkungsmechanismus sind beschrieben worden.

Das Antiphospholipid-Syndrom (APS) zeigt ein breites klinisches Bild: Thromboembolien häufig an ungewöhnlicher Lokalisation, rezidivierende Aborte, aber auch TIA's, Livedo reticularis, Thrombozytopenie etc. - mit positivem Nachweis von APA. Neben den funktionellen Testen zum Nachweis des Lupusantikoagulanz steht ein breites Spektrum immunologischer Tests zur Verfügung; z. B. die Bestimmung der Anti-Cardiolipin- oder Anti- β_2 -Glykoprotein I-AK. Die Diagnose APS wird gestellt, wenn neben einem der beschriebenen klinischen Symptome zumindest ein Laborkriterium erfüllt ist, welches im Abstand von mindestens 6 Wochen zu bestätigen ist.

Zwischen einem isolierten, positiven Laborergebnis und dem APS sollte streng unterschieden werden. Die präoperativ gefundene PTT-Verlängerung bei einem Kind ist vielfach durch eine Interferenz mit den APA bedingt. Im Kindesalter handelt es sich überwiegend um ein infekti- bzw. antibiotika-induziertes, passageres Phänomen, welches bei einem asymptomatischen Kind ohne klinische Relevanz ist. Bei einem symptomatischen Patienten mit thromboembolischen Komplikationen, hat der Nachweis von Antiphospholipid Antikörper eine große Bedeutung hinsichtlich Diagnose und Therapie.

Molekulare Diagnostik bei Hämophilie und Faktor-VII-Mangel

F. H. Herrmann, K. Wulff, W. Schröder

Institut für Humangenetik, Universitätsklinikum Greifswald, Fleischmannstr. 42-44, 17487 Greifswald

Möglichkeiten und Anwendungen der molekularen Genanalyse werden für Hämophilie A und B sowie für den hereditären FVII-Mangel dargestellt. Die Hämophilie wird X-chromosomal rezessiv vererbt, der FVII-Mangel autosomal rezessiv. Ausgehend vom Vererbungsmodus der Defekte wird ein Überblick über die Molekulardefekte bei Hämophilie A gegeben. Es werden die Ergebnisse einer großen Studie zur Mutationsanalyse von 203 Hämophilie-B-Patienten (Greifswalder Hämophilie-B-Studie) und von 77 Patienten mit FVII-Mangel (Greifswalder Studie FVII-Mangel) vorgestellt. Auf molekularer Ebene zeigen FVII und FIX große Homologien sowohl in der Struktur des zugrundeliegenden Gens als auch in der Primärstruktur des Proteins. An ausge-

wählten Mutationen werden Struktur-Funktions-Beziehungen unter dem Aspekt funktioneller Analogien von FIX und FVII dargestellt. Die Anwendung der molekularen Genanalyse in der humangenetischen Beratung (direkte genomische Diagnostik) und klinischen Diagnostik wird erläutert. Bezüglich des hereditären Faktor-VII-Mangels wird die Rolle des Genotypes (Homozygotie, Compound-Heterozygotie und Heterozygotie) verschiedener Genmutationen und Genpolymorphismen auf den Grad der Verminderung der FVII-Aktivität beschrieben. Die Variabilität der klinischen Symptomatik wird vor dem Hintergrund der zugrundeliegenden Molekulardefekte diskutiert.

Thrombozytendiagnostik

A. Greinacher

Institut für Immunologie und Transfusionsmedizin, Ernst-Moritz-Arndt-Universität Greifswald

Thrombozyten können Ursache für thromboembolische oder hämorrhagische Gerinnungsstörungen sein.

HIT: Bei der immunologischen Form der Heparin-induzierten Thrombozytopenie bilden Patienten Antikörper (AK), die Thrombozyten und Endothelzellen aktivieren. Nachweisverfahren für HIT AK: anti-PF4/Heparin AK ELISA (+) einfach und schnell durchführbar, erfaßt HIT Antikörper der Klasse IgM/IgA (-) falsch negativ bei NAP-2, IL-8- AK. Aggregationstest (wenig sensitiv) und HIPA Test (+) unabhängig vom Antigen; höhere Korrelation zur Klinik; (-) Arbeitsaufwand; nur IgG Nachweis. Sichere Bestätigung bzw. Ausschluß der HIT erfordert die Kombination beider Verfahren. Ein Screening auf HIT-Antikörpern wird nicht empfohlen, besser regelmäßige Kontrolle der Thrombozytenzahl ab Tag fünf der Heparintherapie.

Thrombozytopenie-Diagnostik: Zufallsbefund: Ausschluß von Pseudothrombozytopenie, hereditäre Makrothrombozytopenien (Verteilungskurve, MPV, Differential-BB). Transfusionsrefraktärer polytransfundierter Patient, neonatale Alloimmunthrombozytopenie, posttransfusionelle Purpura: Nachweis freier Thrombozyten-Allo-Antikörper (ELISA Test-Kits: a) Suchtest mit Thrombozytenpanel, b) mit immobilisierten Thrombozyten-Glykoproteinen (GP)). Autoimmunthrombozytopenie: am sensitivsten Nachweis zellgebundener GP-spezifischer Thrombozyten-Autoantikörper (MAIPA).

Thrombozytopathien: Blutungszeit oder PFA-100 (Screening 1. Stufe), Aggregometer (Screening 2. Stufe), Durchflußzytometrie (GP-Defekte), Neu und wichtig: Thrombozyten-Antikörper, die die Funktion hemmen (normale Thrombozyten-Werte, starke Blutungsneigung unklarer Ursache, oft GP Ia/IIa AK)

Ausblick: Genetische Polymorphismen von Thrombozyten-GPs (z. B.: HPA-1a/b und GPIa807C/T) scheinen mit einem erhöhten Risiko für arterielle thromboembolische Komplikationen assoziiert zu sein. Dies könnte eine Indikation für eine intensiviertere Therapie darstellen. Valide klinische Studien hierzu fehlen. Individuelle Risikoabschätzung z. Z. nicht möglich.